(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication : **2 660 556**
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national : **90 04471**

(51) Int Cl⁵ : A 61 K 9/51

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt** : 06.04.90.

(30) **Priorité** :

(43) **Date de la mise à disposition du public de la demande** : 11.10.91 Bulletin 91/41.

(56) **Liste des documents cités dans le rapport de recherche** : *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés** :

(71) **Demandeur(s)** : *RHONE-POULENC SANTE* — FR.

(72) **Inventeur(s)** : Spenlehauer Gilles, Veillard Michel et Verrechia Thierry.

(73) **Titulaire(s)** :

(74) **Mandataire** : Rhône-Poulenc Rorer S.A.

(54) Microsphères, leur procédé de préparation et leur utilisation.

(57) La présente invention concerne de nouvelles microsphères biodégradables et biocompatibles constituées d'un ou plusieurs principes actifs et d'un polymère biodégradable et biocompatible et d'une substance tensioactive, elle aussi biodégradable et biocompatible.

Le procédé consiste à préparer une solution du polymère et du principe actif dans un solvant non miscible à l'eau que l'on mélange ensuite à la solution aqueuse de tensioactif suivi d'une évaporation du solvant.

FR 2 660 556 - A1

La présente invention concerne de nouvelles formes pharmaceutiques. Elle concerne plus particulièrement des microsphères de principes actifs ayant un diamètre particulièrement faible de l'ordre d'environ un micron. Elle vise également un procédé de préparation desdites microsphères et leur utilisation.

Il est particulièrement important dans le domaine pharmaceutique de pouvoir disposer de formes pharmaceutiques se présentant sous des dimensions extrêmement réduites et ayant en plus une homogénéité de répartition remarquable. Ces exigences sont surtout importantes pour les formes pharmaceutiques destinées à une administration parentérale.

Certains principes actifs requièrent aussi un enrobage pour leur administration. Ainsi se pose un double problème obtenir des formes pharmaceutiques présentant un diamètre aussi faible que possible, le principe actif étant enrobé par un polymère, l'ensemble devant pouvoir être administré à l'homme ou à l'animal. Ce polymère doit aussi posséder des propriétés de biocompatibilité et de biodégradabilité remarquables.

Ce problème général est connu de l'industrie pharmaceutique depuis longtemps. Diverses descriptions de microparticules ont déjà été proposées comme par exemple dans le brevet US 4 330 338. Ce brevet qui ne répond pas au problème préalablement évoqué décrit un procédé de préparation de microsphères de polymère et leur addition subséquente à des principes actifs pharmaceutiques, lors de la préparation par exemple de comprimés.

Selon ce brevet, on prépare des microsphères de polymère, en réalisant une solution du polymère non hydrosoluble dans un solvant plus volatil que l'eau, puis on émulsionne cette solution dans une phase aqueuse éventuellement en présence d'un agent émulsifiant et enfin on évapore le solvant. Les microsphères obtenues présentent un diamètre réparti entre 0,1 et 20 microns. Elles sont utilisées pour enrober des principes actifs pharmaceutiques. Il est précisé dans ce brevet que pour obtenir le taux désiré d'enrobant, lorsque le polymère est insoluble dans

l'eau, il est nécessaire d'ajouter à l'émulsion un agent tel que qu'un polymère hydrosoluble comme par exemple la méthyl cellulose ou la polyvinylpyrrolidone. Ces agents favorisant l'enrobage sont choisis parmi les composés solubles dans l'eau et acceptables pour l'ingestion. Malheureusement la plupart d'entre eux ne sont pas acceptables pour une administration par voie parentérale. Ce brevet ne décrit jamais l'enrobage d'un principe actif pharmaceutique sous la forme de microsphères et ne résoud donc pas le problème préalablement évoqué.

Il est également décrit dans le brevet EP 269 921 des microsphères de principes actifs enrobées d'un copolymère à base d'acide polylactique. Ces microsphères ont un diamètre moyen compris entre 0,1 et 10 microns. Elles sont obtenues par dissolution du polymère et du principe actif à enrober dans un solvant non miscible à l'eau, suivie d'une émulsion de la solution précédente dans une solution aqueuse contenant un émulsifiant. Cet émulsifiant est choisi parmi l'alcool polyvinylique, la polyvinylpyrrolidone, la carboxyméthylcellulose. Le seul émulsifiant exemplifié est l'alcool polyvinylique. Il est impossible pour l'administration à l'homme par voie injectable de maintenir des traces d'un tel composé.

La présente invention a permis d'obtenir des microsphères de principe actif enrobées par un polymère biodégradable et biocompatible et par une substance tensioactive elle aussi biodégradable et biocompatible.

Elle concerne les microsphères en tant que nouvelles compositions, leur procédé de préparation ainsi que leur utilisation.

Les microsphères selon l'invention sont constituées d'un principe actif pharmaceutique de base, d'un polymère biodégradable et d'une substance tensioactive. Le principe actif pharmaceutique est notamment choisi parmi :

- les agents antiinflammatoires (kétoprofène, ibuprofène, salicylés),

BNSDOCID: <FR 2660556A1 >

- les agents antibactériens (pénicillines, céphalosporines, les macrolides, les synergistines, les tétracyclines, les quinolones),
- les agents anticancéreux,
- les agents ayant une action sur le coeur (antiangoreux nitreux antiarythmiques, antihypertenseurs, bétabloquants, veinotoniques, vasodilatateurs),
- les agents de diagnostic.

Ces microsphères sont aussi constituées d'un polymère biodégradable et biocompatible choisi parmi :

- les homopolymères de l'acide lactique ou de l'acide glycolique ou les copolymères desdits acides,
- les polymères de l'acide polyhydroxybutyrique,
- les polylactones des acides gras contenant plus de douze atomes de carbone (polycaprolactones, polyvalérolactones),
- les polyorthoesters tels que décrit par HELLER, J.Polym. Sci., 18, 619, 1980
- les polyhydroxyesters d'acide gras ayant plus de douze atomes de carbone (polyhydroxyvalérate),
- les polyanhydrides.

On préfère parmi l'ensemble de ces composés utiliser les copolymères de l'acide lactique et de l'acide glycolique présentant un poids moléculaire compris entre 1000 et 200 000.

Ces microsphères sont aussi constituées d'un agent tensioactif biocompatible protéinique choisi parmi :

- la sérumalbumine,
- la fétuine,
- l'orosomucoïde,
- les glycoprotéines,
- les immunoglobulines,
- la gélatine,
- le collagène,

ou d'un phospholipide, d'un lipopolysacaccharide ou de sels biliaires tels que le cholate de sodium.

Ces microsphères présentent un diamètre particulaire compris entre 0,01 et 10 microns et de préférence entre 0,05 et 1 micron. Le principe actif peut indifféremment être situé dans le coeur de la microsphère mélangé avec le polymère biocompatible ou être situé à l'extérieur du coeur emprisonné dans le tensioactif. La situation du principe actif dépend fortement de son affinité pour le polymère ou pour le tensioactif.

Le procédé de préparation de ces microsphères consiste à mettre en solution le principe actif et le polymère dans un solvant organique, non miscible à l'eau, plus volatil que l'eau tel que par exemple les solvants halogénés et tout particulièrement le dichlorométhane, le chloroforme, le toluène, les alcools aliphatiques (éthanol, isopropanol), ou leurs mélanges.

On prépare à côté une solution aqueuse du tensioactif que l'on mélange à grande vitesse avec la solution précédente au moyen d'un homogénéisateur à haute pression (1 à 11 bar).

On obtient alors une émulsion aqueuse contenant les microsphères qui subit ensuite une évaporation de façon à éliminer le solvant. Les microsphères obtenues en solution aqueuse peuvent être utilisées telles quelles ou peuvent subir une étape ultérieure de lyophilisation. Dans ce dernier cas on ajoute avantageusement un agent de lyophilisation tel que par exemple le mannitol ou le thréalose.

Selon une meilleure manière de mettre en oeuvre l'invention on utilise de préférence une quantité de polymère telle qu'elle représente une concentration pondérale par rapport au solvant comprise entre 0,01 et 20 % et encore plus préférentiellement comprise entre 1 et 10 %. On préfère aussi mettre en oeuvre au maximum 25 % de principe actif dans le milieu.

L'émulsion est réalisée en mettant en oeuvre de préférence :

- 1 à 50 % en poids de solvant contenant le polymère et le principe actif,
- 98,9 à 30 % en poids d'eau,
- 0,1 à 20 % en poids d'agent tensioactif.

Encore plus préférentiellement on met en oeuvre :

- 1 à 30 % en poids de solvant contenant le polymère et le principe actif,
- 98,9 à 50 % en poids d'eau,
- 0,1 à 20 % en poids d'agent tensioactif.

La solution aqueuse obtenue après évaporation du solvant contenant les microsphères est constituée de :

- 0,05 à 20 % en poids de principe actif,
- 0,1 à 40 % en poids de polymère,
- 0,2 à 20 % en poids d'agent tensioactif,
- 99,65 à 20 % en poids d'eau.

Elle est encore plus préférentiellement constituée de :

- 0,05 à 12 % en poids de principe actif,
- 0,1 à 25 % en poids de polymère,
- 0,1 à 20 % en poids d'agent tensioactif,
- 99,65 à 57 % en poids d'eau.

Cette solution est directement utilisable pour une utilisation parentérale.

La solution aqueuse obtenue peut aussi avantageusement subir une étape ultérieure de lyophilisation après addition d'environ 10 % en poids de mannitol par rapport au poids d'eau contenu dans la solution devant subir la lyophilisation.

L'invention sera plus complètement décrite à l'aide des exemples suivants qui ne doivent pas être considérés comme limitatifs de l'invention.

EXEMPLE 1

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules d'un copolymère des acides D,L lactique (37,5 % L et 37,5 % D) et glycolique (25%) (PLA37.5 GA25) et de spiramycine est préparée en dissolvant 0,5 g de ce polymère et 0,5 g de spiramycine dans 10 g de dichlorométhane. Cette solution est ensuite dispersée dans 50 g d'une solution aqueuse de cholate de sodium à 1 % (P/P). Une émulsion grossière est obtenue. Elle est recyclée pendant 3 minutes à l'aide d'un homogénéisateur haute pression type MICROFLUIDIX!. L'émulsion est alors débarrassée du dichlorométhane à l'aide d'un évaporateur rotatif à une pression de 50,5 cm de mercure à 20°C. Le pseudo-latex obtenu est constitué de nanoparticules d'un diamètre moyen de 60 +/-15 nm, et contient 12,6 % (P/P) de spiramycine.

EXEMPLE 2

Une suspension à 7 % (P/P) de nanoparticules de PLA37.5 GA25 est préparée en dissolvant 3,5 g du mélange de l'exemple 1 dans 45 g de dichlorométhane et en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1. Les particules ont un diamètre moyen de 270 +/- 50 nm.

EXEMPLE 3

Une suspension à 15 % (P/P) de nanoparticules de poly-(L)lactique est obtenue en dissolvant 7,5 g du mélange de l'exemple 1 dans du dichlorométhane et suivant le protocole décrit dans l'exemple 1.

EXEMPLE 4

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules d'acide polyhydroxybutyrique et de phénoxyméthylpénicilline est obtenue

suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par de la sérum albumine, et la spiramycine par 0,21 g de pénicilline V acide (phénoxyméthylpénicilline). Les nanoparticules contiennent 7,2 % (P/P) d'antibiotique.

EXEMPLE 5

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de polyanhydride est obtenue en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par un mélange gélatine/Pluronic F68 (50/50 P/P).

EXEMPLE 6

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de PLA37.5 GA25 est obtenue en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par de la lécithine purifiée. Une observation en microscopie électronique à transmission révèle la présence de feuillets de phospholipides entourant les nanoparticules de polymère.

EXEMPLE 7

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de poly-ε-caprolactone est obtenue en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par du collagène.

EXEMPLE 8

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de PLA37.5 GA25 est obtenue en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par de la fétuine.

EXEMPLE 9

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et d'un copolymère des acides hydroxybutyrique et valérique est obtenue en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par de l'orosomucoïde.

EXEMPLE 10

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de PLA37.5 GA25 contenant de l'huile de coton (Mygliol 812) est obtenue suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en additionnant 0,1 g d'huile dans la solution de polymère dans le dichlorométhane.

EXEMPLE 11

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de PLA37.5·GA25 est obtenue en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par une immunoglobuline.

EXEMPLE 12

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de PLA37.5 GA25 est obtenue en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par un lipopolysaccharide de paroi bactérienne.

EXEMPLE 13

Une suspension à 0,1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de PLA37.5 GA25 est obtenue en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par un mélange de lécithine/ ganglioside M1 (5/1, mol/mol).

EXEMPLE 14

Une suspension à 0,1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de PLA37.5 GA25 est obtenue en suivant le protocole décrit dans l'exemple 1 en remplaçant le cholate de sodium par une lipoproteïne haute densité.

EXEMPLE 15

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de Poly-(L) lactique est obtenue en suivant le protocole de l'exemple 1 mais en utilisant une solution aqueuse de cholate de sodium à 0,05 %, les nanoparticules ont un diamètre moyen de 280 +/- 60 nm.

EXEMPLE 16

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de Poly-(D,L) lactique est obtenue en suivant le protocole de l'exemple 1 mais en utilisant une solution aqueuse de sérum albumine à 0,05 %, les nanoparticules ont un diamètre moyen de 320 +/- 60 nm.

EXEMPLE 17

Une suspension à 1 % (P/P) de nanoparticules de spiramycine et de Poly-(D,L) lactique est obtenue en suivant le protocole de l'exemple 1 mais en utilisant une solution aqueuse de sérum albumine à 3 %, les nanoparticules ont un diamètre moyen de 80 +/- 20 nm.

REVENDICATIONS

1 - Microsphères constituées d'un ou plusieurs principes actifs, d'un polymère biodégradable et biocompatible et d'une substance tensioactive elle aussi biodégradable et biocompatible.

2 - Microsphères selon la revendication 1 caractérisées en ce qu'elles présentent un diamètre particulaire compris entre 0,01 et 10 microns et de préférence entre 0,05 et 1 micron.

3 - Microsphères selon la revendication 1 caractérisées en ce que le polymère biodégradable et biocompatible est choisi parmi :

- les homopolymères de l'acide lactique ou de l'acide glycolique ou les copolymères desdits acides,
- les polymères de l'acide polyhydroxybutyrique,
- les polylactones des acides gras contenant plus de douze atomes de carbone (polycaprolactones, polyvalérolactones),
- les polyorthoesters (HELLER),
- les polyhydroxyesters d'acide gras ayant plus de douze atomes de carbone (polyhydroxyvalérate),
- les polyanhydrides.

4 - Microsphères selon la revendication 1 caractérisées en ce que l'agent tensioactif biocompatible est choisi parmi les composés protéiniques suivants :

- la sérumalbumine,
- la fétuine,
- l'orosomucoïde,
- les glycoprotéines,
- les immunoglobulines,
- la gélatine,
- le collagène,

ou les phospholipides, les lipopolysaccharides ou les sels biliaires tel que le cholate de sodium.

5 - Procédé de préparation des microsphères selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisé en ce qu'on prépare une solution du polymère et du principe actif dans un solvant non miscible à l'eau, plus volatil que l'eau que l'on mélange avec une solution aqueuse du tensioactif, suivi d'une évaporation du solvant.

6 - Procédé de préparation selon la revendication 5 caractérisé en ce que le solvant est choisi parmi les solvants aliphatiques halogénés, les alcools et les solvants aromatiques.

7 - Procédé selon la revendication 5 caractérisé en ce que le mélange est effectué au moyen d'un homogénéisateur à hautre pression.

8 - procédé selon la revendication 5 caractérisé en ce qu'on utilise une concentration pondérale en polymère par rapport au solvant comprise entre 0,01 et 20 % en poids, et de préférence entre 1 et 10 %.

9 - Procédé selon la revendication 5 caractérisé en ce que l'émulsion est composée de :

- 1 à 50 % en poids de solvant contenant le polymère et le principe actif,
- 98,9 à 30 % en poids d'eau,
- 0,1 à 20 % d'agent tensioactif.

10 - Procédé selon la revendication 9 caractérisé en ce que l'émulsion est composée de :

- 1 à 30 % en poids de solvant contenant le polymère et le principe actif,
- 98,9 à 60 % en poids d'eau,
- 0,1 à 20 % en poids d'agent tensioactif.

11 - Compositions injectables contenant un ou plusieurs principes actifs sous forme de microsphères caractérisées en ce qu'elles sont constituées de :

- 0,05 à 20 % en poids de principe actif,
- 0,1 à 40 % en poids de polymère,
- 0,2 à 20 % en poids d'agent tensioactif,
- 99,65 à 20 % en poids d'eau.

12 - Compositions injectables selon la revendication 11 caractérisées en ce qu'elles contiennent :

- 0,05 à 12 % en poids de principe actif,
- 0,1 à 25 % en poids de polymère,
- 0,1 à 20 % en poids d'agent tensioactif,
- 99,65 à 57 % en poids d'eau.

REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

2660556
N° d'enregistrement national

RAPPORT DE RECHERCHE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

FR 9004471
FA 440503

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
D,X	EP-A-0 269 921 (SANRAKU) * Revendications 1,3; page 3, lignes 33-51 *	1-6
X	GB-A-2 207 693 (SANDOZ) * Revendications 1,2,4-8; page 1, lignes 40-49,129-130; page 2, lignes 1-4,31-41,74-80,95-97,107 *	1-6
D,A	US-A-4 330 338 (G.S. BANKER) * Colonne 2, lignes 61-68; colonne 3, lignes 1-5,25-33,40-47,56-58; colonne 4, lignes 1-5; colonne 5, lignes 36-39 *	1-6
A	EP-A-0 134 318 (CONNAUGHT LABS) * Revendications 1-6,8-10; page 2, lignes 31-36; page 4, exemple 1 *	1-6

DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)

A 61 K

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
14-12-1990	SCARPONI U.

CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

EPO FORM 1503 03.82 (P0413)